

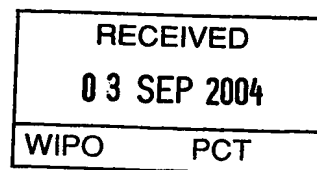
101/11200 4 7 0 0 4 3 0

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



EP04/4984

Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung



Aktenzeichen: 103 20 870.4

Anmeldetag: 09. Mai 2003

Anmelder/Inhaber: Evotec Technologies GmbH,
40225 Düsseldorf/DE

Bezeichnung: Partikelinjektor für einen Zellsortierer

IPC: C 12 M 1/26

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 27. Mai 2004
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Wallner

BESCHREIBUNG

5 Die Erfindung betrifft einen Partikelinjektor zur Einbringung von Partikeln in einen Trägerstrom eines mikrofluidischen Systems, insbesondere zur Einspritzung von biologischen Zellen in den Trägerstrom eines Zellsortierers, gemäß dem Oberbegriff von Anspruch 1.

10

Aus US 5 489 506 ist ein Zellsortierer bekannt, der es ermöglicht, biologische Zellen in einem Trägerstrom dielektrophoretisch zu trennen, wobei die zur Trennung verwendeten dielektrophoretischen Effekte beispielsweise in Müller, T. et

15 al.: "A 3-D microelectrode system for handling and caging single cells and particles", Biosensors & Bioelectronics 14 (1999) 247-256 beschrieben sind. Die zu sortierenden biologischen Zellen werden hierbei durch einen Partikelinjektor in den Trägerstrom eingespritzt, wobei der Trägerstrom über ei-

20 nen Einlass in den Partikelinjektor eintritt und diesen zusammen mit den eingespritzten biologischen Zellen über einen Auslass wieder verlässt. Die eigentliche Einspritzung der zu

sortierenden biologischen Zellen erfolgt durch eine Injektionsnadel, die durch ein Septum in dem Partikelinjektor durchgestochen und coaxial in den Trägerstrom zwischen dem Einlass und dem Auslass des Partikelinjektors eingeführt wird, so
25 dass die über die Injektionsnadel eingebrachten Zellen von dem Trägerstrom mitgerissen werden.

30 Nachteilig an diesem bekannten Partikelinjektor ist der Verlust an Zellen, der durch Zellablagerungen in dem Partikelinjektor entsteht. Diese Zellablagerungen können im Extremfall zu einem Zusetzen des Partikelinjektors führen, was die Förderung des Trägerstroms behindert oder gar vollständig zum

Erliegen bringt. Dies kommt bei fluidischen Systemen mit geringen Förderraten von z.B. weniger als 200 $\mu\text{l/h}$ besonders stark zur Wirkung.

- 5 Der Erfindung liegt deshalb die Aufgabe zugrunde, bei dem vorstehend beschriebenen bekannten Partikelinjektor den Verlust an Zellen durch Partikelablagerungen zu minimieren und ein Zusetzen des Partikelinjektors zu verhindern.
- 10 Insbesondere soll ein Partikelinjektor geschaffen werden, der wahlweise eine kontinuierliche oder eine diskontinuierliche Injektion von Partikeln in einem fluidischen Mikrochip ("Lab-on-Chip") ermöglicht, wobei eine lang anhaltende (z.B. im Bereich von Stunden), möglichst gleichmäßige Beladung des Systems mit Partikeln erreicht werden soll.
- 15

Diese Aufgabe wird, ausgehend von dem vorstehend beschriebenen bekannten Partikelinjektor gemäß dem Oberbegriff des Anspruchs 1, durch die kennzeichnenden Merkmale des Anspruchs 1

20 gelöst.

Zur Verhinderung eines Zusetzens des Partikelinjektors ist der Trägerstromkanal zwischen dem Einlass des Partikelinjektors und dem Auslass des Partikelinjektors vorzugsweise to-

25 traumfrei, um ein Festsetzen von Partikeln in dem Strömungskanal zu verhindern.

Der Trägerstromkanal des Partikelinjektors weist deshalb vorzugsweise eine glatte Innenkontur ohne Vorsprünge oder Vertiefungen auf, die einen laminaren Strömungsverlauf behindern könnten. Bei einer mathematisch idealisierten Betrachtung

30 weist die Innenkontur des Trägerstromkanals also vorzugsweise eine stetig differenzierbare Oberfläche auf.

Vorzugsweise weist der Trägerstromkanal in dem Partikelinjektor zwischen dem Einlass und dem Auslass sogar einen konstanten Strömungsquerschnitt auf, da jede Querschnittsveränderung in dem Trägerstromkanal ein Festsetzen von Partikeln erleichtert.

Der Querschnitt des Trägerstromkanals ist vorzugsweise kreisförmig, jedoch kann der Trägerstromkanal bei dem erfindungsgemäßen Partikelinjektor auch elliptisch oder eckig geformt sein.

In dem bevorzugten Ausführungsbeispiel der Erfindung mündet der Injektionskanal für die Einspritzung der Partikel stumpfwinklig und vorzugsweise rechtwinklig in den Trägerstromkanal, so dass der Partikelinjektor auch als T-Injektor bezeichnet werden kann. Vorteilhaft an einer derartigen geometrischen Anordnung des Injektionskanals ist die Tatsache, dass der in dem Trägerstromkanal fließende Trägerstrom die zu injizierenden Partikel mitreißt. Die Erfindung ist jedoch hinsichtlich der geometrischen Anordnung des Injektionskanals nicht auf eine stumpfwinklige Einmündung des Injektionskanals in den Trägerstromkanal beschränkt. Es ist beispielsweise auch möglich, dass der Injektionskanal - wie bei dem eingangs erwähnten US-Patent 5 489 506 - coaxial zu dem Trägerstromkanal verläuft, um die Partikel coaxial in den Trägerstrom einzuspritzen.

Bei dem erfindungsgemäßen Partikelinjektor dient der Injektionskanal vorzugsweise nicht nur zur Einspritzung der Partikel, sondern auch zur mechanischen Führung einer Injektionsnadel, die beispielsweise durch ein Septum hindurch gestochen und in den Injektionskanal eingeführt werden kann. Der Injektionskanal weist deshalb vorzugsweise einen Innendurchmesser auf, der geringfügig größer als der Außendurchmesser der In-

jektionsnadel ist. Vorzugsweise bildet die Injektionsnadel mit dem Injektionskanal des Partikelinjektors eine Spielpassung oder eine Übergangspassung, um eine gute mechanische Führung der Injektionsnadel zu erreichen.

5

Das Einführen der Injektionsnadel in den Injektionskanal kann bei dem erfindungsgemäßen Partikelinjektor durch eine Einführhilfe erleichtert werden, die vorzugsweise aus einer trichterförmigen Querschnittserweiterung des Injektionskanals

10 besteht. Vorzugsweise ist die Einführhilfe für die Injektionsnadel in einem separaten Bauteil angeordnet, das mit dem Partikelinjektor lösbar befestigt ist. Beispielsweise kann dieses als Einführhilfe dienende separate Bauteil auf den Partikelinjektor aufgeschraubt oder in sonstiger Weise mit
15 dem Partikelinjektor verbunden werden. Es ist jedoch alternativ auch möglich, dass die Einführhilfe einstückig an dem Partikelinjektor angeordnet ist, so dass auf ein separates Bauteil als Einführhilfe verzichtet werden kann.

20 Das vorstehend bereits erwähnte Septum zur Abdichtung des Injektionskanals ist vorzugsweise austauschbar und mehrlagig aufgebaut. Beispielsweise kann das Septum einen Silikonkern aufweisen, der beidseitig mit Teflon beschichtet ist.

25 Die fluidische Kontaktierung des erfindungsgemäßen Partikelinjektors erfolgt vorzugsweise durch Schläuche, die an dem Einlass bzw. dem Auslass des Partikelinjektors befestigt werden. Bei dieser fluidischen Kontaktierung ist es wünschenswert, dass an der Übergangsstelle zwischen den Schläuchen und
30 dem Trägerstromkanal möglichst keine Querschnittssprünge auftreten, um dort ein Anlagern von Partikeln zu verhindern. Zur Erleichterung einer korrekten Montage der Schläuche weist der erfindungsgemäße Partikelinjektor deshalb vorzugsweise am Einlass und/oder am Auslass eine Zentrierhilfe auf, damit der

Schlauch möglichst koaxial zu dem Trägerstromkanal montiert wird.

5 Eine derartige Zentrierhilfe kann beispielsweise aus einer im wesentlichen hohlzylindrischen Aufnahme bestehen, die an den Trägerstromkanal angrenzt und koaxial zu dem Trägerstromkanal angeordnet ist, wobei der Innendurchmesser der Aufnahme um die Wandungsstärke der anzuschließenden Leitung größer als der Innendurchmesser des Trägerstromkanals ist. Die Leitung
10 wird hierbei also in die hohlzylindrische Aufnahme eingeschoben, die koaxial zu dem Trägerstromkanal verläuft und dadurch eine entsprechende koaxiale Ausrichtung der Leitung sicherstellt.

15 In einer Variante der Erfindung erfolgt die Einspritzung der Partikel in den Trägerstromkanal bezüglich der auf den Partikelinjektor wirkenden Schwerkraft von oben nach unten vorzugsweise senkrecht, wobei der Injektionskanal an der Oberseite des Partikelinjektors angeordnet ist. Bei einer derartigen Anordnung des Injektionskanals oberhalb des Trägerstromkanals begünstigt die Wirkung der Schwerkraft die Einbringung der Partikel in den Trägerstromkanal.
20

Hierbei ist es möglich, dass sich der Querschnitt des Injektionskanals zu dem Trägerstromkanal hin konisch verjüngt, was
25 auch das Einführen einer Injektionsnadel in den Injektionskanal erleichtert. Beispielsweise kann sich der Injektionskanal mit einem Konuswinkel zwischen 5° und 45° zum Trägerstromkanal hin verjüngen, wobei beliebige Zwischenwerte möglich
30 sind.

In einer anderen Variante der Erfindung ist der Einlass des Trägerstromkanals dagegen an der Unterseite des Partikelinjektors angeordnet, während sich der Auslass des Trägerstrom-

kanals an der Oberseite des Partikelinjektors befindet, so dass der Trägerstrom von unten nach oben gerichtet ist. Der Injektionskanal kann hierbei seitlich in den Trägerstromkanal münden, wobei der Trägerstromkanal vorzugsweise einen Querschnitt aufweist, der sich vom Einlass ausgehend zum Auslass hin erweitert. Beispielsweise kann sich der Trägerstromkanal mit einem Konuswinkel zwischen 5° und 45° zum Einlass hin konisch verengen, wobei beliebige Zwischenwerte möglich sind. Eine derartige Querschnittsverengung des Trägerstromkanals zu dem unten liegenden Einlass hin, ist vorteilhaft, da so einem Zusetzen des Trägerstromkanals entgegen gewirkt wird. So könnten Sedimentationseffekte in dem Trägerstromkanal zu Partikelablagerungen im unteren Bereich des Trägerstromkanals führen. Die Querschnittsverengung im unteren Bereich des Trägerstromkanals führt dort jedoch zu einer entsprechenden Erhöhung der Strömungsgeschwindigkeit, was Sedimentationsablagerungen mit der Gefahr eines Zusetzens weitgehend verhindert.

Vorzugsweise weist der Trägerstromkanal zwischen dem Einlass und dem Auslass ein Volumen auf, das zwischen $0,02 \mu\text{l}$ und $5 \mu\text{l}$ liegt, wobei beliebige Zwischenwerte möglich sind.

Ferner ist zu erwähnen, dass der erfindungsgemäße Partikelinjektor vorzugsweise autoklavierbar ist, um eine Sterilisation des Partikelinjektors zu ermöglichen. Als Material für den Partikelinjektor eignet sich deshalb vorzugsweise PEEK, jedoch kann der erfindungsgemäße Partikelinjektor auch aus anderen Materialien bestehen.

Weiterhin ist es vorteilhaft, wenn der Partikelinjektor aus einem wärmeleitfähigen Material besteht, um die Temperatur des Partikelinjektors messen oder beeinflussen zu können. Vorzugsweise ist der Partikelinjektor deshalb mit einem Tem-

peratursensor und/oder mit einem Temperierelement verbunden, wobei das Temperierelement vorzugsweise sowohl eine Beheizung als auch eine Kühlung des Partikelinjektors ermöglicht und beispielsweise aus einem Peltier-Element bestehen kann.

5

Darüber hinaus umfasst die Erfindung auch ein mikrofluidisches System mit dem erfindungsgemäßen Partikelinjektor, wobei der Partikelinjektor vorzugsweise in einer Trägerstromleitung angeordnet ist, die in einen Zellsortierer mündet.

10

In einem Ausführungsbeispiel eines derartigen mikrofluidischen Systems können in der Trägerstromleitung hintereinander mehrere erfindungsgemäße Partikelinjektoren angeordnet sein, um nacheinander verschiedene Partikel einspritzen zu können.

15

Ferner ist zu erwähnen, dass der im Rahmen der Erfindung verwendete Begriff eines Partikels allgemein zu verstehen ist und nicht auf einzelne biologische Zellen beschränkt ist.

20

Vielmehr kann der erfindungsgemäße Partikelinjektor mit verschiedenen Partikelarten, insbesondere synthetischen oder biologischen Partikeln, arbeiten. Besondere Vorteile ergeben sich, wenn die Partikel biologische Materialien, also beispielsweise biologische Zellen, Zellgruppen, Zellbestandteile oder biologisch relevante Makromoleküle, jeweils ggf. im Ver-

25

bund mit anderen biologischen Partikeln oder synthetischen Trägerpartikeln umfassen. Synthetische Partikel können feste Partikel, flüssige, vom Suspensionsmedium abgegrenzte Teilchen oder Mehrphasenpartikel umfassen, die gegenüber dem Suspensionsmedium in dem Trägerstromkanal eine getrennte Phase

30

bilden.

Andere vorteilhafte Weiterbildungen der Erfindung sind in den Unteransprüchen gekennzeichnet oder werden nachstehend zusam-

men mit der Beschreibung der bevorzugten Ausführungsbeispiele der Erfindung anhand der Figuren näher erläutert. Es zeigen:

Figur 1 einen Zellsortierer mit einem erfindungsgemäßen Partikelinjektor,

Figuren 2 bis 4 Querschnittsansichten verschiedener alternativer Ausführungsbeispiele des Partikelinjektors,

Figur 5 eine Seitenansicht einer Einführhilfe zur Erleichterung der Einführung einer Injektionsnadel in die erfindungsgemäßen Partikelinjektoren sowie

Figur 6 eine Variante eines mikrofluidischen Systems mit einem erfindungsgemäßen Partikelinjektor.

Die schematische Darstellung in Figur 1 zeigt einen erfindungsgemäßen Zellsortierer, der mittels eines mikrofluidischen Sortierchips 1 biologische Zellen dielektrophoretisch sortiert.

Die Techniken der dielektrophoretischen Beeinflussung von biologischen Zellen sind beispielsweise in Müller, T. et al.: "A 3-D microelectrode system for handling and caging single cells and particles", Biosensors & Bioelectronics 14 (1999) 247-256 beschrieben, so dass im folgenden auf eine detaillierte Beschreibung der dielektrophoretischen Prozesse in dem Sortierchip 1 verzichtet wird und diesbezüglich auf die vorstehende Veröffentlichung verwiesen wird.

Der Sortierchip 1 weist zur fluidischen Kontaktierung mehrere Anschlüsse 2-6 auf, wobei die fluidische Kontaktierung der Anschlüsse 2-6 in DE 102 13 272 beschrieben ist, deren Inhalt der vorliegenden Beschreibung zuzurechnen ist.

5

Der Anschluss 2 des Sortierchips 1 dient zur Aufnahme eines Trägerstroms mit den zu sortierenden biologischen Zellen, während der Anschluss 3 des Sortierchips 1 zur Abführung der ausselektierten biologischen Zellen dient, die auf dem Sortierchip 1 nicht weiter untersucht werden. Die ausselektierten biologischen Zellen können von einer Injektionsspritze 7 aufgefangen werden, die an den Anschluss 3 des Sortierchips 1 angeschlossen werden kann. Der Ausgang 5 des Sortierchips 1 dient dagegen zur Abführung der interessierenden biologischen Zellen, die anschließend weiter verarbeitet oder untersucht werden können.

10

15

Ferner dienen die Anschlüsse 4 und 6 des Sortierchips 1 zur Zuführung eines sogenannten Hüllstroms, der die Aufgabe hat, die selektierten biologischen Zellen zu dem Anschluss 5 des Sortierchips 1 zu führen. Hinsichtlich der Funktionsweise des Hüllstroms wird auf die deutsche Patentanmeldung DE 100 05 735 verwiesen, so dass im folgenden auf eine detaillierte Beschreibung der Funktionsweise des Hüllstroms verzichtet werden kann.

20

25

Die Anschlüsse 4 und 6 des Sortierchips sind über zwei Hüllstromleitungen 8, 9, ein Y-Stück 10 und ein Vier-Wege-Ventil 11 mit einem Druckbehälter 12 verbunden, in dem sich ein Kultivierungsmedium für den Hüllstrom befindet. Anstelle des Kultivierungsmediums kann sich in dem Druckbehälter 12 jedoch auch ein sogenannter Manipulationsbuffer befinden.

30

Der Druckbehälter 12 wird über eine Druckluftleitung 13 unter Überdruck gesetzt, so dass das in dem Druckbehälter 12 befindliche Kultivierungsmedium bei einer entsprechenden Stellung des Vier-Wege-Ventils 11 über das Y-Stück 10 und die Hüllstromleitungen 8, 9 zu den Anschlüssen 4, 6 des Sortierchips 1 strömt.

Der Anschluss 2 des Sortierchips 1 ist dagegen über eine Trägerstromleitung 14 mit einem Partikelinjektor 15 verbunden, von dem verschiedene alternative Ausführungsbeispiele in den Figuren 2 bis 4 dargestellt sind und später noch detailliert beschrieben werden.

Stromaufwärts ist der Partikelinjektor 15 über ein T-Stück 16 mit einer Trägerstromspritze 17 verbunden, die maschinell angetrieben wird und einen vorgegebenen Flüssigkeitsstrom eines Trägerstroms injiziert.

Darüber hinaus ist das T-Stück 16 stromaufwärts über ein weiteres Vier-Wege-Ventil 18 und eine Hüllstromleitung 19 mit einem Drei-Wege-Ventil 20 verbunden. Das Drei-Wege-Ventil 20 ermöglicht eine Spülung der Hüllstromleitungen 8, 9 sowie der Trägerstromleitung 14 vor dem eigentlichen Betrieb.

Hierzu ist das Drei-Wege-Ventil 20 stromaufwärts über eine Peristaltikpumpe 21 mit drei Drei-Wege-Ventilen 22.1-22.3 verbunden, an die jeweils ein Spritzenreservoir 23.1-23.3 angeschlossen ist. Die Spritzenreservoirs 23.1-23.3 dienen hierbei zur Zuführung eines Füllstroms zum Spülen des gesamten Fluidiksystems vor dem eigentlichen Betrieb, wobei das Spritzenreservoir 23.1 70% Ethanol enthält, während das Spritzenreservoir 23.2 als Füllstromsubstanz Aqua destillata enthält. Das Spritzenreservoir 23.3 enthält schließlich eine Pufferlösung als Füllstromsubstanz, wobei als Füllstromsub-

stanz alternativ auch eine andere Manipulationslösung verwendet werden kann, wie beispielsweise eine physiologische Salzlösung.

- 5 Ferner weist der Zellsortierer einen Auffangbehälter 27 für überschüssigen Hüllstrom sowie einen Auffangbehälter 28 für überschüssigen Füllstrom auf.

10 Im folgenden wird zunächst der Spülvorgang beschrieben, der vor dem eigentlichen Betrieb des Zellsortierers durchgeführt wird, um die Hüllstromleitung 8, 9, die Trägerstromleitung 14 und das restliche Fluidiksystem des Zellsortierers von Luftblasen und Verunreinigungen zu befreien.

- 15 Hierzu wird zunächst das Drei-Wege-Ventil 22.1 geöffnet und Ethanol von dem Spritzenreservoir 23.1 als Füllstrom eingespritzt, wobei das Ethanol von der Peristaltikpumpe 21 zunächst zu dem Drei-Wege-Ventil 20 gefördert wird. Während des Spülvorgangs ist das Drei-Wege-Ventil 20 so eingestellt, das
20 ein Teil des von der Peristaltikpumpe 21 geförderten Füllstroms über die Füllstromleitung 19 weiter geleitet wird, während der restliche Teil des von der Peristaltikpumpe 21 geförderten Füllstroms zu dem Vier-Wege-Ventil 11 gelangt. Die beiden Vier-Wege-Ventile 11, 18 sind wiederum so eingestellt,
25 stellt, dass der Füllstrom durch die Hüllstromleitungen 8, 9 und die Trägerstromleitung 14 durchgeleitet wird. Weiterhin fließt Kultivierungsmedium aus dem Druckbehälter 12 in den Auffangbehälter 27, um die Leitungen kurz zu fluten.

- 30 Nach der vorstehend beschriebenen Spülung des Zellsortierers mit Ethanol erfolgt in der gleichen Weise eine Spülung mit Aqua destillata bzw. Pufferlösung, wobei jeweils die Drei-Wege-Ventile bzw. 22.2 bzw. 22.3 geöffnet werden.

Bei dem vorstehend beschriebenen Spülvorgang kann überschüssiger Füllstrom von dem Vier-Wege-Ventil 18 in den Auffangbehälter 28 abgeleitet werden.

- 5 Nach dem Spülvorgang werden die Drei-Wege-Ventile 22.1-22.3 geschlossen und die Peristaltikpumpe 21 abgeschaltet.

10 Zur Einleitung des Sortierbetriebs wird das Vier-Wege-Ventil 11 so eingestellt, dass der Druckbehälter 12 mit dem Y-Stück 10 verbunden wird, so dass das in dem Druckbehälter 12 befindliche Kultivierungsmedium aufgrund des in dem Druckbehälter 12 herrschenden Überdrucks in die Hüllstromleitungen 8, 9 gedrückt wird.

- 15 Weiterhin wird während des Sortierbetriebs das Vier-Wege-Ventil 18 so eingestellt, dass keine Strömungsverbindung zwischen dem T-Stück 16 und dem Vier-Wege-Ventil 18 besteht.

20 Der von der Trägerstromspritze 17 eingespritzte Trägerstrom fließt dann über das T-Stück 16 in den Partikelinjektor 15, wobei durch eine weitere Injektionsspritze 29 biologische Zellen in den Trägerstrom eingespritzt werden. Anschließend fließt der Trägerstrom mit den injizierten biologischen Zellen von dem Partikelinjektor 15 über die Trägerstromleitung 25 14 zu dem Anschluss 2 des Sortierchips.

Weiterhin ist zu erwähnen, dass an dem Partikelinjektor 15 ein Temperatursensor 30 angebracht ist, um die Temperatur T des Partikelinjektors 15 zu messen.

30

Darüber hinaus befindet sich an dem Partikelinjektor 15 ein Temperierelement 31 in Form eines Peltier-Elements, um den Partikelinjektor 15 beheizen oder abkühlen zu können.

Die Heiz- bzw. Kühlenergie Q wird hierbei von einem Temperaturregler 32 vorgegeben, der eingangsseitig mit dem Temperatursensor 30 verbunden ist und die Temperatur T des Partikelinjektors 15 auf einen vorgegebenen Sollwert einregelt.

5

Im folgenden wird nun das in Figur 2 dargestellte Ausführungsbeispiel des Partikelinjektors 15 beschrieben.

Der Partikelinjektor 15 weist einen Grundkörper 33 aus PEEK auf, der autoklavierbar ist somit eine einfache und/oder mehrfache Sterilisation ermöglicht.

10

Zur Aufnahme des Trägerstroms weist der Partikelinjektor 15 einen Einlass 34 mit einem Innengewinde 35 auf, in das ein Schraubflansch eines Anschlussschlauchs 36 eingeschraubt werden kann, wobei der Schraubflansch zur Vereinfachung nicht dargestellt ist.

15

Zur Abgabe des Trägerstroms mit den injizierten biologischen Zellen weist der Partikelinjektor 15 einen Auslass 37 mit einem Innengewinde 38 auf, in das ebenfalls ein Schraubflansch eines Anschlussschlauchs 39 eingeschraubt werden kann, wobei der Schraubflansch des Anschlussschlauchs 39 zur Vereinfachung ebenfalls nicht dargestellt ist.

20

25

Zur Erleichterung der Montage der beiden Schläuche 36, 39 weist der Partikelinjektor 15 jeweils eine Zentrierhilfe 40, 41 auf, die aus einer zylindrischen Aufnahme besteht und an den Einlass 34 bzw. 37 angrenzt. Zwischen den beiden Zentrierhilfen 40, 41 verläuft hierbei ein Trägerstromkanal 42 coaxial zu den beiden Zentrierhilfen 40, 41, wobei der Innendurchmesser der beiden Zentrierhilfen 40, 41 um die Wandungstärke der beiden Anschlussschläuche 36, 39 größer ist als der Innendurchmesser des Trägerstromkanals 42. Bei der Monta-

30

ge der Anschlussschläuche 36, 39 werden diese also in den Zentrierhilfen 40, 41 so plaziert, dass an der Stoßstelle zwischen den Schläuchen 36, 39 und dem Trägerstromkanal 42 keine Sprünge auftreten, was ein Zusetzen des Trägerstromkanals 42 weitgehend verhindert.

In den Trägerstromkanal 42 mündet rechtwinklig zu dem Trägerstromkanal 42 ein Injektionskanal 43, in den zur Einspritzung biologischer Zellen eine Injektionsnadel der Injektionsspritze 29 eingeführt werden kann, wobei die Injektionsnadel der Injektionsspritze 29 ein Septum 44 durchstößt.

Figur 3 zeigt ein alternatives Ausführungsbeispiel eines Injektors 15', das weitgehend mit dem vorstehend beschriebenen und in Figur 2 dargestellten Ausführungsbeispiel übereinstimmt. Zur Vermeidung von Wiederholungen wird deshalb nachfolgend auf die vorstehend beschriebene Beschreibung zu Figur 2 verwiesen, wobei für entsprechende Teile dieselben Bezugszeichen wie in Figur 2 verwendet werden, die zur Unterscheidung lediglich durch einen Apostroph gekennzeichnet sind.

Eine Besonderheit des Partikelinjektors 15' besteht darin, dass der Einlass 34' für den Trägerstrom an der Unterseite des Partikelinjektors 15' angeordnet ist, während sich der Auslass 37' für den Trägerstrom mit den injizierten biologischen Zellen an der Oberseite des Partikelinjektors 15' befindet. Der Trägerstrom verläuft also in dem Partikelinjektor 15' senkrecht von unten nach oben, wobei der Injektionskanal 43' seitlich in den Trägerstromkanal 42' mündet.

Eine weitere Besonderheit des Partikelinjektors 15' besteht darin, dass sich der Querschnitt des Trägerstromkanals 42' von oben nach unten verjüngt, so dass die Strömungsgeschwin-

digkeit des Trägerstroms in dem Trägerstromkanal 42' entsprechend von oben nach unten zunimmt. Durch diese Zunahme der Strömungsgeschwindigkeit in dem Trägerstromkanal 42' werden Sedimentationsablagerungen an der Unterseite des Trägerstrom-

5 kanals 42' entgegengewirkt.

Figur 4 zeigt ein weiteres alternatives Ausführungsbeispiel eines Partikelinjektors 15'', das ebenfalls weitgehend mit dem vorstehend beschriebenen und in Figur 2 gezeigten Partikelinjektor 15 übereinstimmt. Zur Vermeidung von Wiederholungen wird deshalb auch im folgenden weitgehend auf die vorstehende Beschreibung zu Figur 2 verwiesen, wobei für entsprechende Teile dieselben Bezugszeichen verwendet werden, die lediglich zur Unterscheidung durch zwei Apostrophe gekennzeichnet sind.

10

15

Eine Besonderheit des Partikelinjektors 15'' besteht darin, dass sich der Querschnitt des Injektionskanals 42'' zu seiner Mündungsöffnung nach oben hin erweitert, so dass die Injektionsnadel der Injektionsspritze 29 leichter eingeführt werden kann.

20

Die Querschnittserweiterung des Injektionskanals 42'' bietet darüber hinaus den Vorteil, dass der Injektionskanal 42'' ein zusätzliches Injektionsvolumen im Bereich von 5-100 µl aufweist.

25

Schließlich zeigt Figur 5 eine Einführhilfe 45 für die Injektionsnadel der Injektionsspritze 29, wobei die Einführhilfe 45 als separates Bauteil ausgebildet ist. Die Einführhilfe 45 weist an ihrer Unterseite einen zylindrischen Abschnitt 46 mit einem Außengewinde 47 auf, das in ein entsprechendes Innengewinde der Partikelinjektoren 15' bzw. 15'' angeschraubt

30

werden kann, um die Einführhilfe 45 an dem Partikelinjektor 15' bzw. 15'' zu befestigen.

Das Einschrauben der Einführhilfe 45 erfolgt hierbei manuell über eine Rändelung 48, die an einem oberen Abschnitt der Einführhilfe 45 angebracht ist.

In der Einführhilfe befindet sich eine Fortsetzung 49 des Injektionskanals 43 bzw. 43', die an ihrer Oberseite in eine trichterförmige Erweiterung 50 übergeht, um das Einführen der Injektionsnadel der Injektionsspritze 29 zu erleichtern.

Figur 6 zeigt schließlich eine Abwandlung des in Figur 1 gestrichelt umrandeten Bereichs, so dass im folgenden zur Vermeidung von Wiederholungen weitgehend auf die Beschreibung zu Figur 1 verwiesen wird. Darüber hinaus werden für entsprechende Bauteile dieselben Bezugszeichen verwendet, die zur Vermeidung von Wiederholungen lediglich durch zusätzliche Indizes gekennzeichnet sind.

Eine Besonderheit dieser Abwandlung besteht darin, dass in der Trägerstromleitung 14' hierbei hintereinander drei Partikelinjektoren 15.1-15.3 angeordnet sind, so dass drei verschiedene Partikel in den Trägerstrom eingespritzt werden können.

Die Erfindung ist nicht auf die vorstehend beschriebenen bevorzugten Ausführungsbeispiele beschränkt. Vielmehr ist eine Vielzahl von Varianten und Abwandlungen möglich, die ebenfalls von dem Erfindungsgedanken Gebrauch machen und deshalb in den Schutzbereich fallen.

* * * * *

PATENTANSPRÜCHE

- 5 1. Partikelinjektor (15, 15', 15'') zur Einbringung von Partikeln in einen Trägerstrom eines mikrofluidischen Systems, insbesondere zur Einspritzung von biologischen Zellen in den Trägerstrom eines Zellsortierers, mit
- 10 einem Einlass (34, 34', 34'') zur Aufnahme des Trägerstroms, einem Auslass (37, 37', 37'') zur Abgabe des Trägerstroms mit den eingebrachten Partikeln,
- 15 einem Trägerstromkanal (42, 42', 42''), der den Einlass (34, 34', 34'') mit dem Auslass (37, 37', 37'') verbindet, einem in den Trägerstromkanal (42, 42', 42'') mündenden Injektionskanal (43, 43', 43'') zur Einbringung der Partikel in
- 20 den Trägerstrom, dadurch gekennzeichnet, dass
- 25 der Trägerstromkanal (42, 42', 42'') im wesentlichen tottraumfrei ist.
- 30 2. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Injektionskanal (43, 43', 43'') stumpfwinklig in den Trägerstromkanal (42, 42', 42'') mündet.
3. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass der Injektionskanal (43, 43', 43'') im wesentlichen rechtwinklig in den Trägerstromkanal (42, 42', 42'') mündet.

4. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Einlass (34, 34', 34'') und der Auslass (37, 37', 37'') einen im wesentlichen gleich großen Querschnitt aufweisen.
5. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Einlass (34, 34', 34'') und/oder der Auslass (37, 37', 37'') eine Zentrierhilfe (40, 40', 40'', 41, 41', 41'') aufweist, um an dem Einlass (34, 34', 34'') und/oder an dem Auslass (37, 37', 37'') eine Leitung (36, 39) koaxial zu dem Trägerstromkanal (42, 42', 42'') anzubringen.
6. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Zentrierhilfe (40, 40', 40'', 41, 41', 41'') aus einer im wesentlichen hohlzylindrischen Aufnahme besteht, die an den Trägerstromkanal (42, 42', 42'') angrenzt und koaxial zu dem Trägerstromkanal (42, 42', 42'') angeordnet ist, wobei der Innendurchmesser der Aufnahme um die Wandungsstärke der Leitung (36, 39) größer als der Innendurchmesser des Trägerstromkanals (42, 42', 42'') ist.
7. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Injektionskanal (43, 43', 43'') an der Oberseite angeordnet ist.
8. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Injektionskanal (43, 43', 43'') einen Querschnitt aufweist, der sich zu dem Trägerstromkanal (42, 42', 42'') hin verengt.
9. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Träger-

stromkanal (42, 42', 42'') einen Querschnitt aufweist, der sich von dem Einlass (34, 34', 34'') ausgehend zu dem Auslass (37, 37', 37'') hin erweitert.

5 10. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** sich der Einlass (34, 34', 34'') des Trägerstromkanals (42, 42', 42'') an der Unterseite und der Auslass (37, 37', 37'') des Trägerstromkanals (42, 42', 42'') an der Oberseite befindet.

10

11. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Injektionskanal (43, 43', 43'') eine Einführhilfe (45) für eine Injektionsnadel aufweist.

15

12. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach Anspruch 11, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Einführhilfe (45) eine trichterförmige Querschnittserweiterung (50) des Injektionskanals aufweist.

20

13. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach Anspruch 11 oder 12, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Einführhilfe (45) aus einem lösbar befestigen separaten Bauteil besteht, in dem eine trichterförmige Einführöffnung (50) angeordnet ist, die im montierten Zustand in den Injektionskanal (43, 43', 43'') mündet.

25

14. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Trägerstromkanal (42, 42', 42'') eine im wesentlichen absatzfreie Innenkontur aufweist.

30

15. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Träger-

stromkanal (42, 42', 42'') ein Volumen aufweist, das zwischen 0,02µl und 5µl liegt.

5 16. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Partikelinjektor (15, 15', 15'') autoklavierbar ist.

10 17. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Partikelinjektor (15, 15', 15'') mindestens teilweise aus PEEK, LEXAN, Keramik oder Metall besteht.

15 18. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Partikelinjektor (15, 15', 15'') mindestens teilweise aus einem wärmeleitfähigen Material besteht.

20 19. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach Anspruch 18, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Partikelinjektor (15, 15', 15'') mit einem Temperatursensor (30) und/oder mit einem Temperierelement (31) verbunden ist.

25 20. Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Einlass (34, 34', 34'') und/oder der Auslass (37, 37', 37'') zur Befestigung einer Leitung (36, 39) ein Gewinde (35, 35', 35'', 38, 38', 38'') aufweist.

30 21. Mikrofluidisches System, insbesondere Zellsortierer, mit einem Partikelinjektor (15, 15', 15'') nach einem der vorhergehenden Ansprüche.

22. Mikrofluidisches System nach Anspruch 21, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Partikelinjektor (15, 15', 15'') in einer

Trägerstromleitung (14) angeordnet ist, wobei die Trägerstromleitung (14) in einen Zellsortierer (1) mündet.

23. Mikrofluidisches System nach Anspruch 21 oder 22, **gekennzeichnet durch** einen Temperatursensor (30) zur Messung der Temperatur des Partikelinjektors (15, 15', 15").

24. Mikrofluidisches System nach einem der Ansprüche 21 bis 23, **gekennzeichnet durch** ein Temperierelement (31) zur Beheizung und/oder Kühlung des Partikelinjektors (15, 15', 15").

25. Mikrofluidisches System nach Anspruch 23 und 23, **gekennzeichnet durch** einen Temperaturregler (32), der eingangsseitig mit dem Temperatursensor (30) und ausgangsseitig mit dem Temperierelement (31) verbunden ist.

26. Mikrofluidisches System nach einem der Ansprüche 22 bis 25, **dadurch gekennzeichnet, dass** in der Trägerstromleitung (14') mehrere Partikelinjektoren (15.1-15.3) hintereinander angeordnet sind.

* * * * *

Partikelinjektor für einen Zellsortierer

5

Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft einen Partikelinjektor (15) zur Einbringung von Partikeln in einen Trägerstrom eines mikrofluidischen Systems, insbesondere zur Einspritzung von biologischen Zellen in den Trägerstrom eines Zellsortierers, mit einem Einlass zur Aufnahme des Trägerstroms, einem Auslass zur Abgabe des Trägerstroms mit den eingebrachten Partikeln, einem Trägerstromkanal, der den Einlass mit dem Auslass verbindet, einem in den Trägerstromkanal mündenden Injektionskanal zur Einbringung der Partikel in den Trägerstrom. Es wird vorgeschlagen, dass der Trägerstromkanal im wesentlichen tot-raumfrei ist.

(Figur 1)

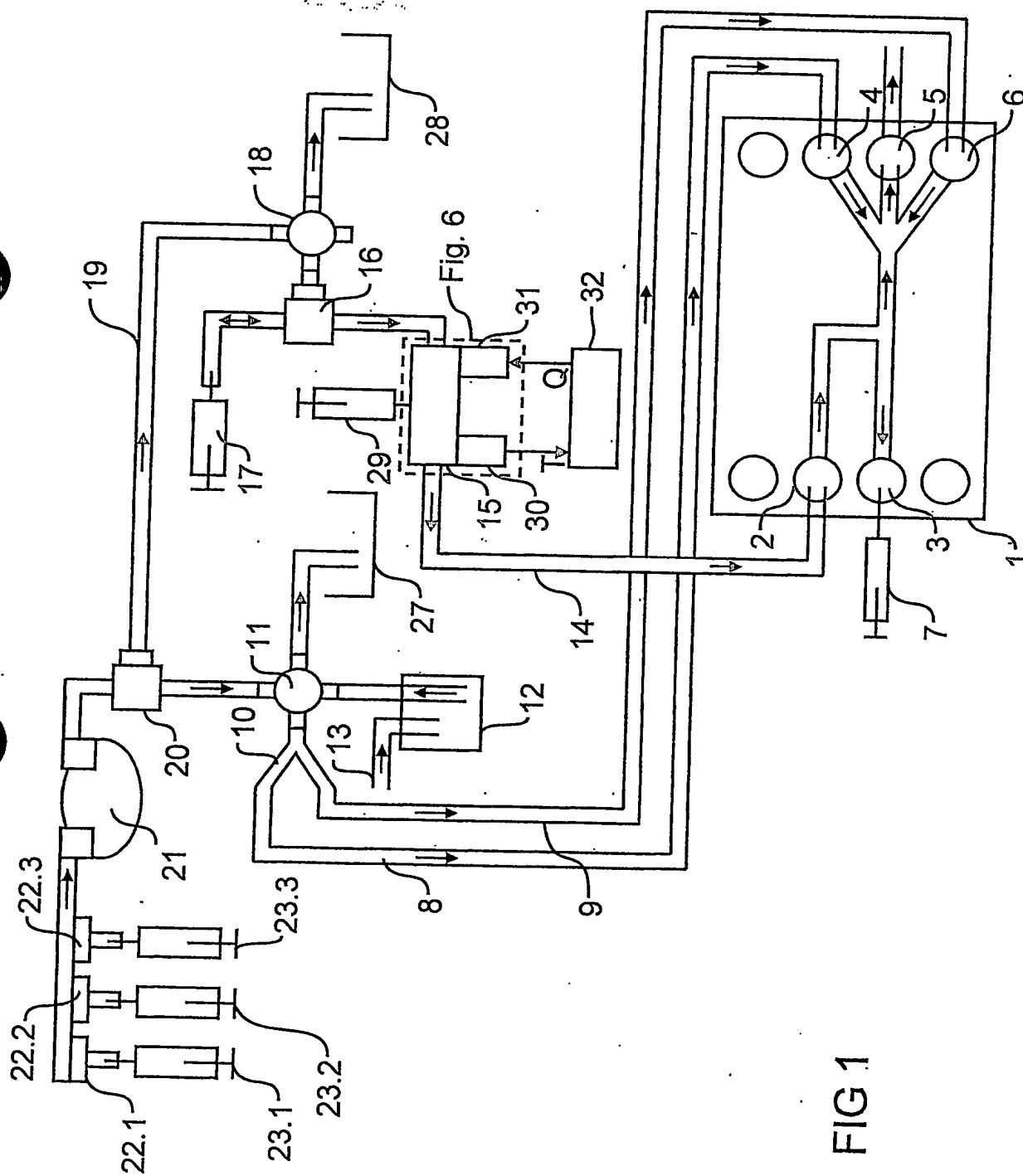


FIG 1

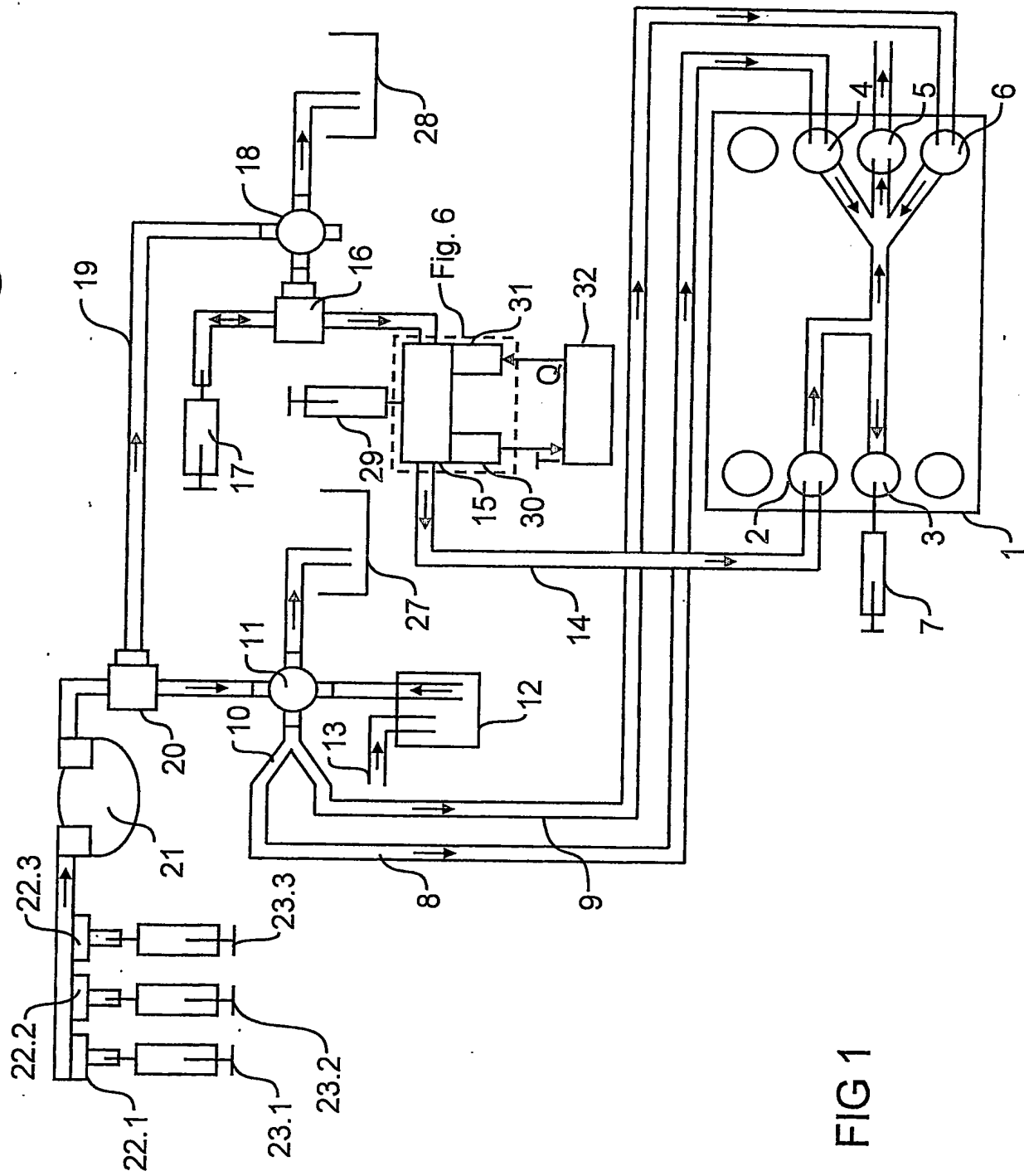


FIG 1

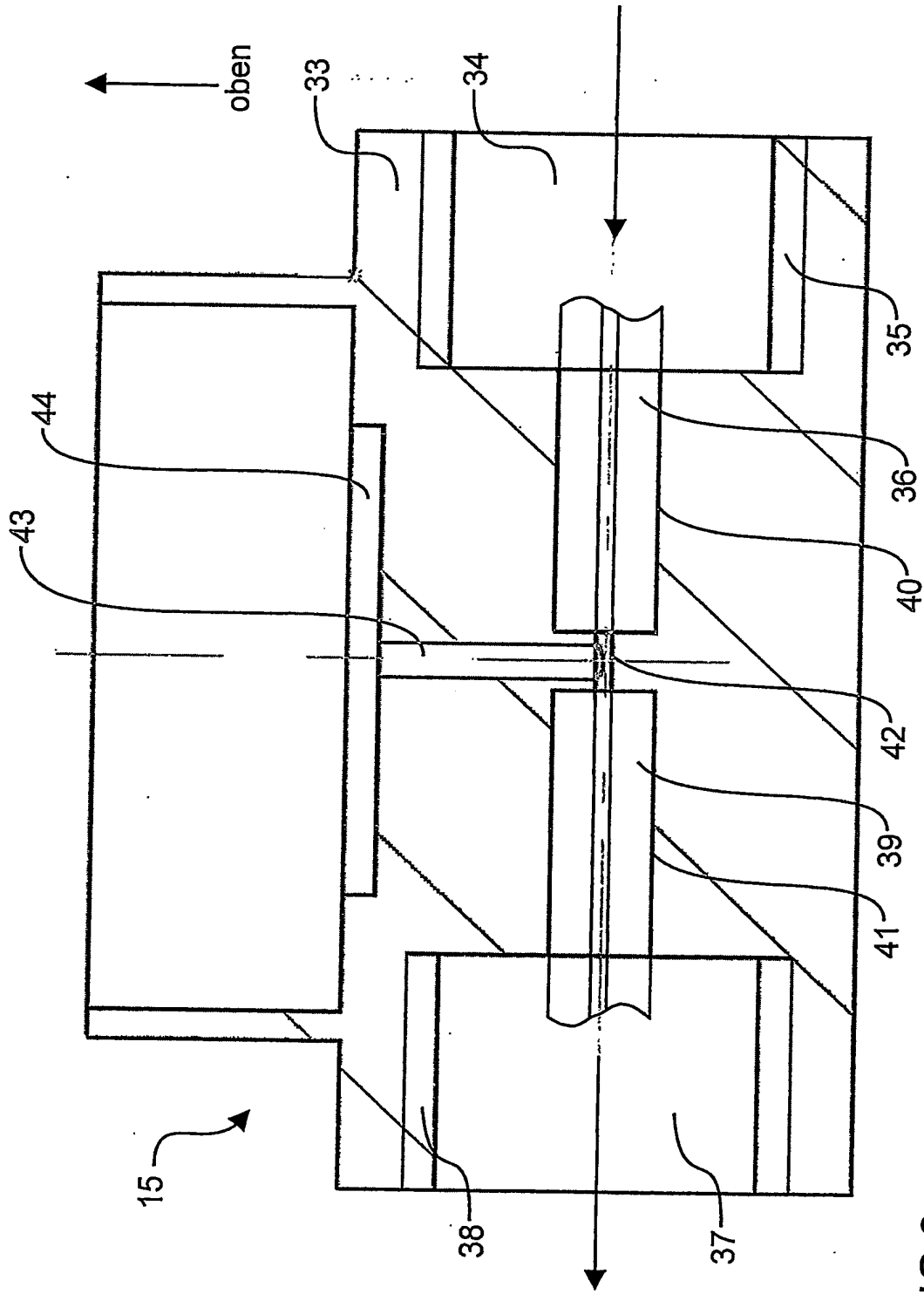


FIG 2

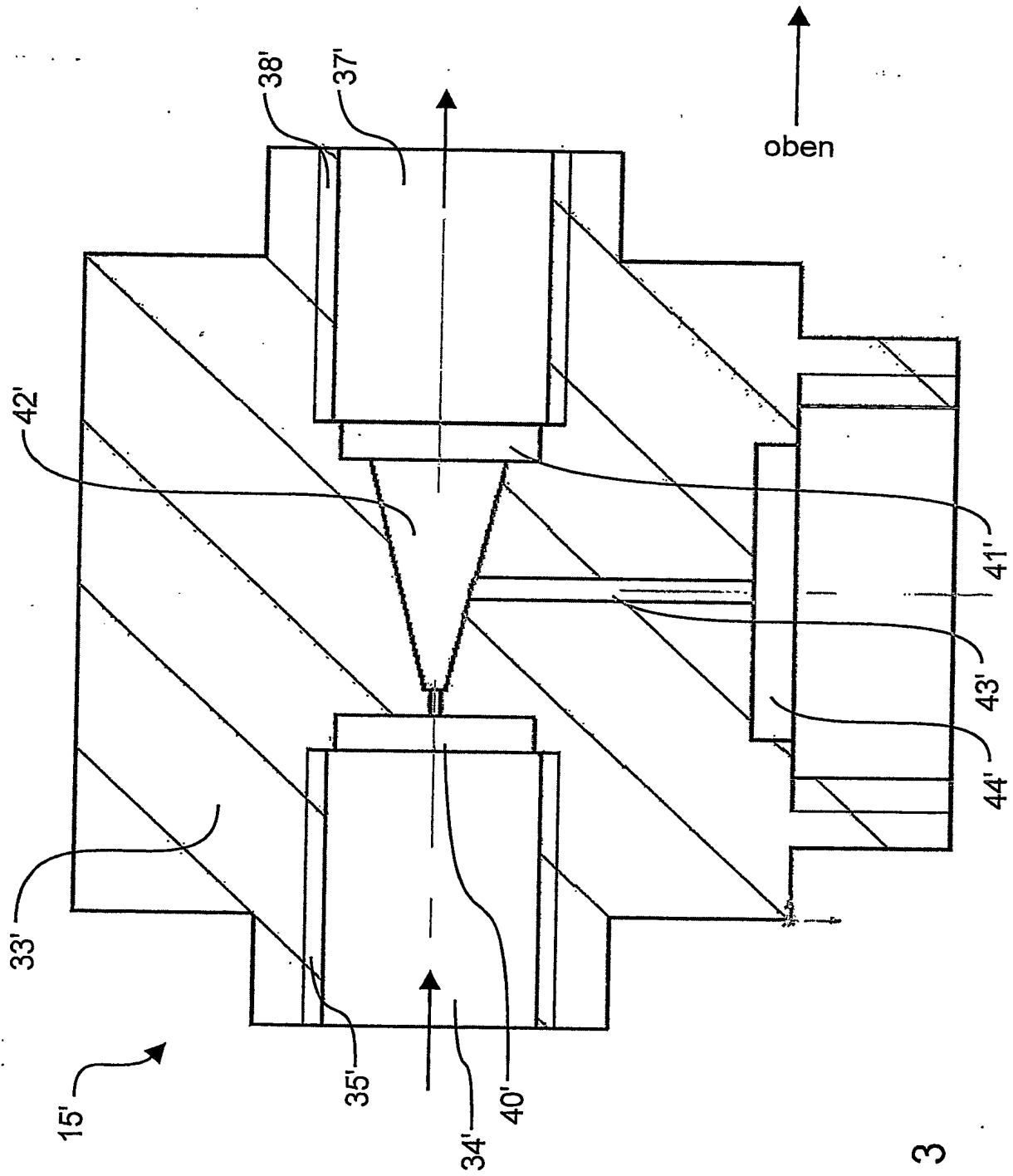


FIG 3

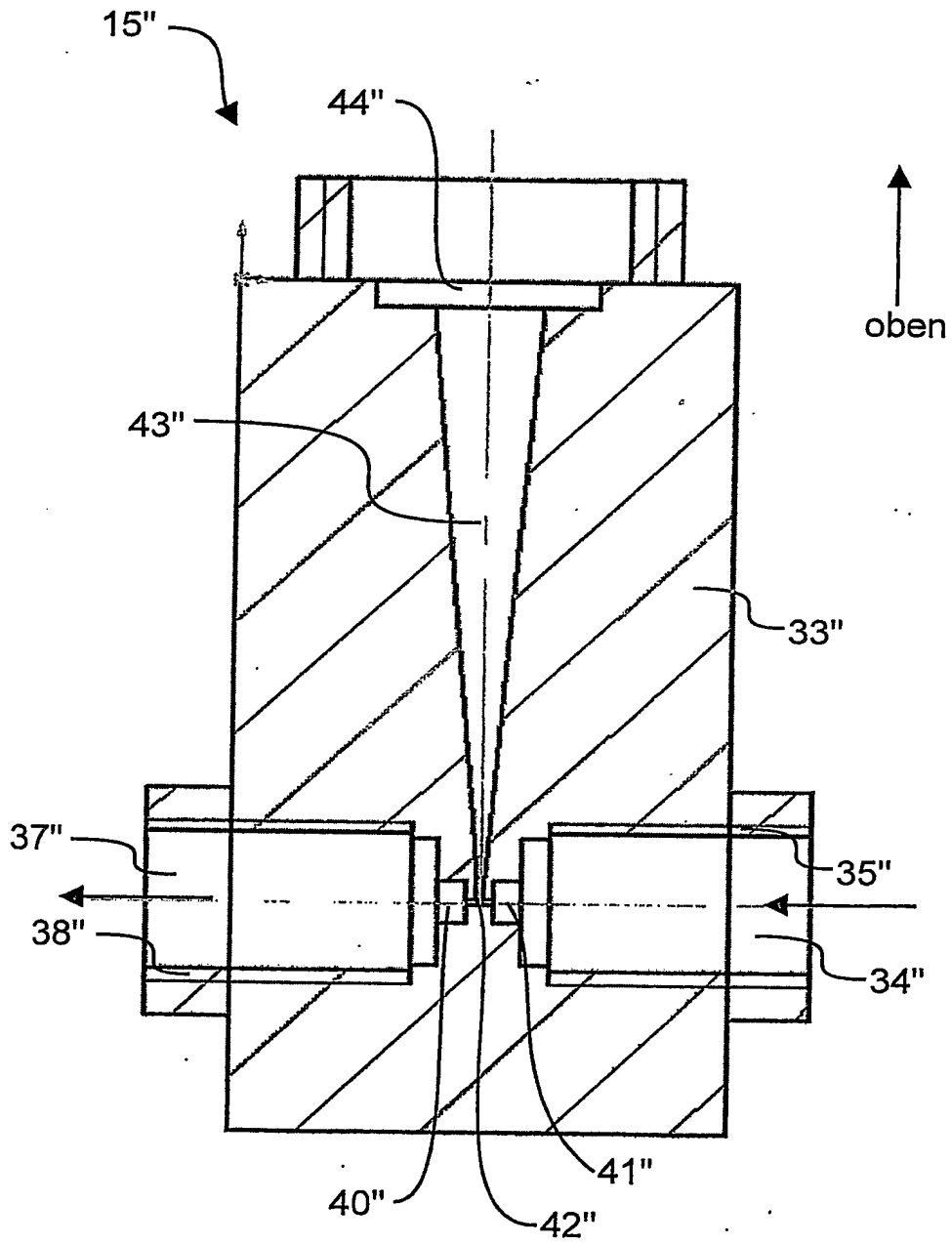


FIG 4

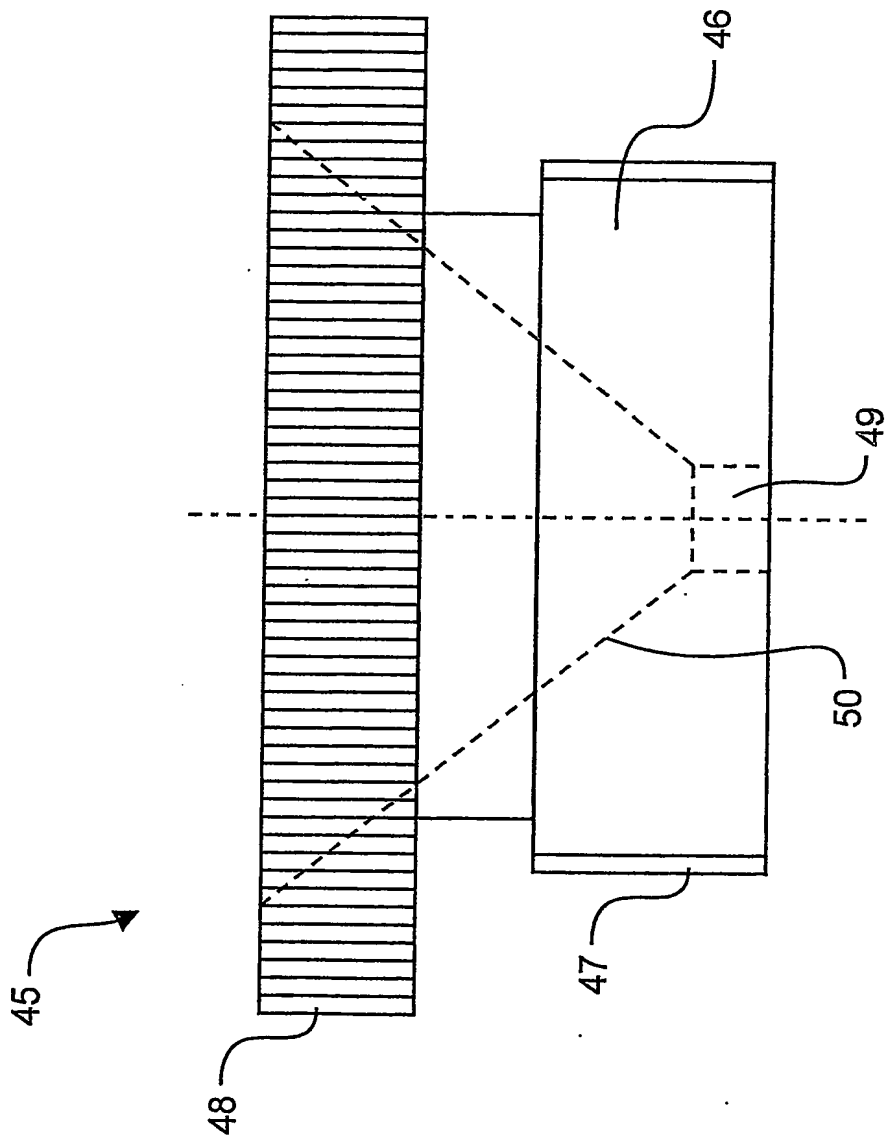


FIG 5

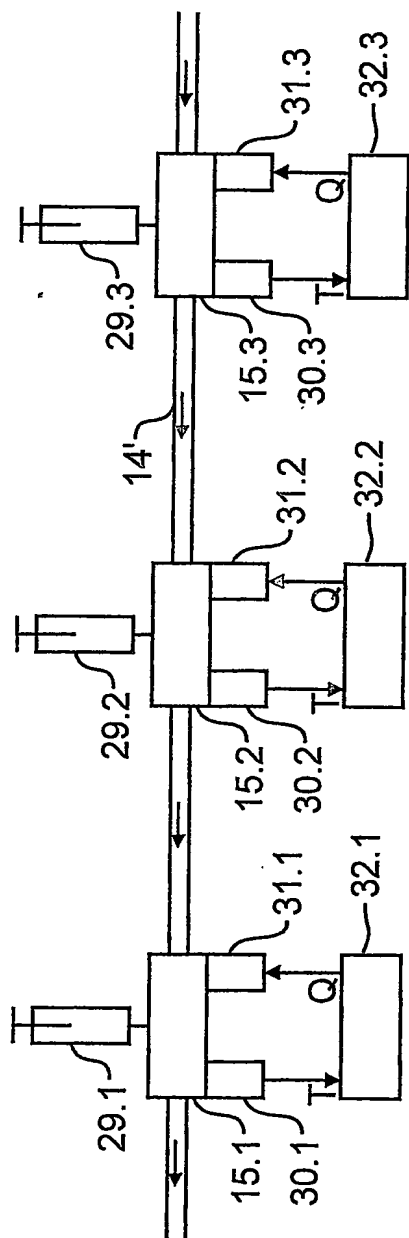


FIG 6